

Реакция нейронов соматосенсорной коры на стимуляцию  
вентро-постеро-медиального ядра таламуса у крыс линии WAG/Rij,  
генетически предрасположенных к абсанс эпилепсии.

Д.А.Цветаева

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва,  
Россия.

Крысы линии WAG/Rij, генетически предрасположены к абсанс – эпилепсии (Coenen A.M.L., van Luijtelaar G. 2003) Предполагается, что триггерной зоной генерации пик - волновой активности у этих животных, является соматосенсорная кора (представительство вибрисс) (Sitnikova E., van Luijtelaar G. 2004). В последнее время появились данные о том, что заднее ядро таламуса (PO) может быть ревербератором, обеспечивающим таламо- кортикальную циркуляцию эпи-активности (Lüttjohann A, van Luijtelaar G. 2015). Это позволяло предполагать, что стимуляция PO может инициировать реверберационный процесс.

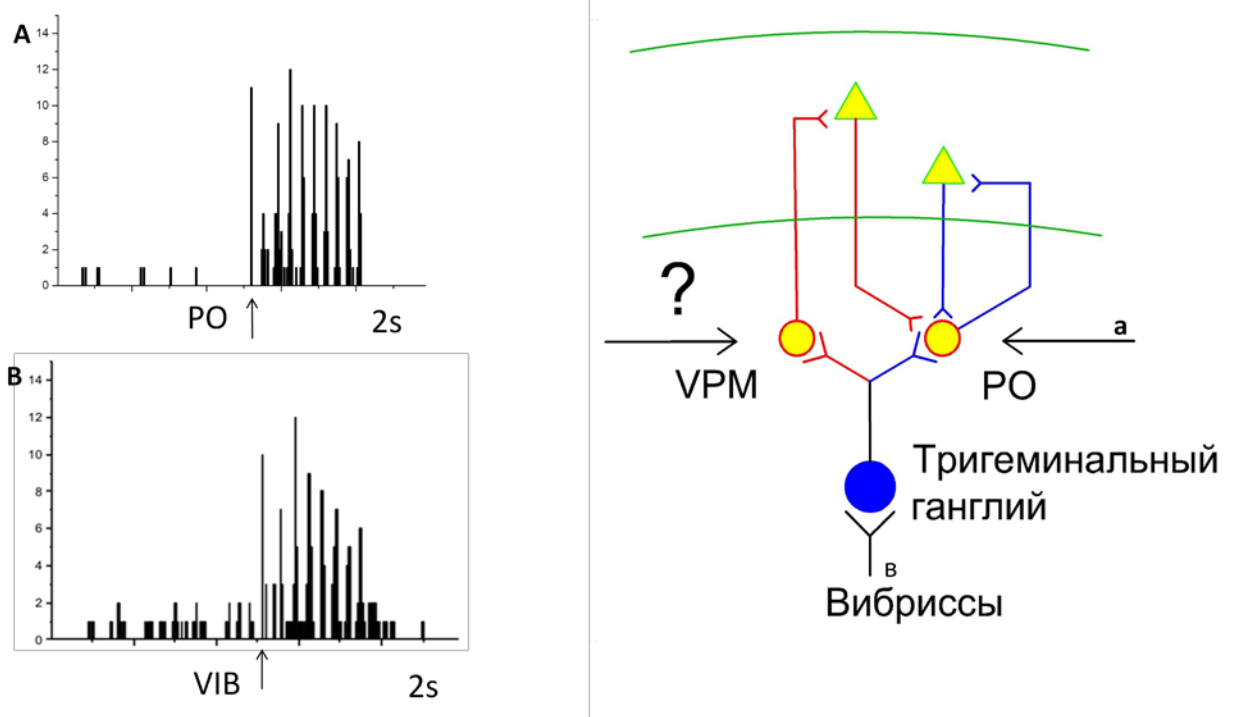


Рис 1. Реакции нейронов соматосенсорной коры на стимуляцию PO (A) и вибрисс (B).

Было установлено, что у крыс WAG/Rij в возрасте 6-8 месяцев, когда абсанс-эпилепсия уже сформирована, вызванная реакция нейронов соматосенсорной коры на раздражение PO у 30% нейронов представлена фазными реакциями (чередование коротких разрядов с тормозными паузами), что было интерпретировано нами как нейронный эквивалент пик-волновой активности (Tsvetaeva et. al. 2019). Такая же реакция была обнаружена при стимуляции вибрисс, что не исключает возможности участия PO в циркуляции возбуждения, но допускает вероятность первичной активации соматосенсорной коры опосредовано вентро-постеро-медиальным ядром таламуса (VPM).

Задачей настоящего исследования явилось изучение реакции нейронов соматосенсорной коры на стимуляцию VPM у крыс линии WAG/Rij в период, когда пик-волновая активность уже сформирована.

### Метод

Использовали крыс-самцов линии WAG/Rij (собственное разведение). Все эксперименты выполняли в соответствии с требованиями Директивы Совета Европейского Сообщества (86/609/ЕЕС) об использовании животных для экспериментальных исследований. В остром эксперименте под уретановым наркозом (150 мг / 100 г веса животного) на 6 крысах линии WAG/Rij в возрасте 7-8 месяцев, исследована реакция 60 нейронов соматосенсорной коры на электрическую стимуляцию VPM. Стимулирующий биполярный электрод вводили стереотаксически в VPM по координатам AP -3,6; L 2,6; Н 6 мм. По окончании эксперимента проверяли локализацию электрода (морфологический контроль). Стимуляцию VPM осуществляли одиночными прямоугольными импульсами тока силой 0,5 мкА, длительностью 0,2 мс. Регистрировали внеклеточную активность одиночных нейронов IV слоя соматосенсорной коры в зоне представительства вибрисс (AP -2,5; L 5,5). Импульсную активность нейронов анализировали с помощью компьютерной программы после построения суммарных (по результатам 10 раздражений) перистимульных гистограмм, включающих активность нейрона в течение 2 с до и 2 с после раздражения. На основе сравнения средних частот в фоне и после раздражения выделяли предполагаемую зону реакции. Статистическую значимость реакции

на стимуляцию VPM определяли непараметрическим методом Вилкоксона. Статистическую значимость межгрупповых различий определяли с использованием параметрического t-теста (все анализируемые показатели имели нормальное распределение - тест Шапиро–Уилка).

### Результаты и обсуждение.

Реакции нейронов 4-го слоя соматосенсорной коры были представлены разнообразными в том числе сложными ответами, включающими от одного до четырех компонентов (Рис. 1).

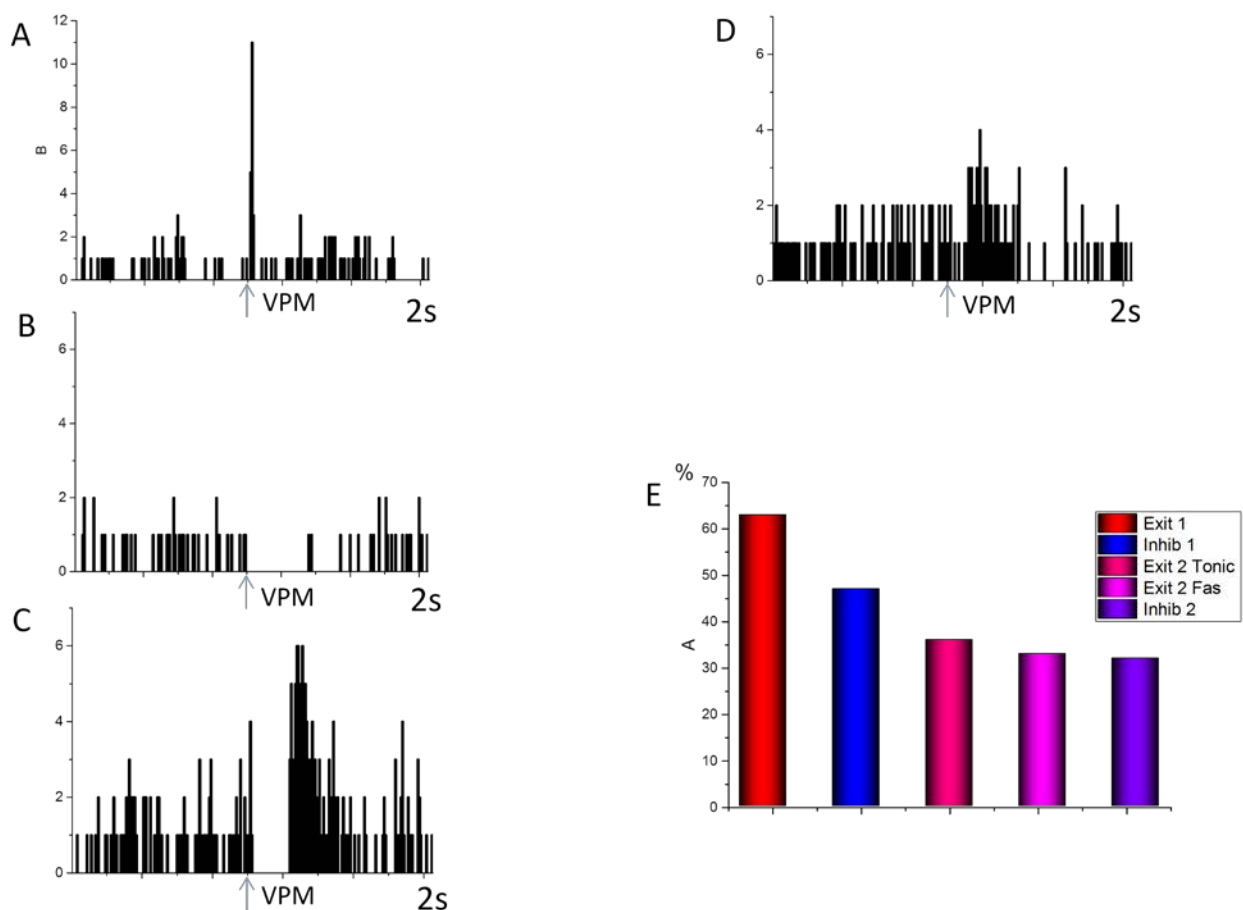


Рис. 2. Реакции нейронов соматосенсорной коры на стимуляцию VPM

А – D - Суммарные перистимульные гистограммы (10 предъявлений). Эпоха анализа 2 с.1 бин 8 мс. По оси ординат – количество спайков в бине. Стрелка – момент нанесения раздражения

Е – Соотношение различных компонентов реакции нейронов на стимуляцию VPM

Это могла быть первичная активация (Рис 2А), первичное тормоторможение (Рис 2В), вторичная активация (Рис 2С) и вторичное торможение (рис. 2D)

Частота встречаемости отдельных компонентов ответа нейронов на стимуляцию VPM была различной (рис 2Е). Параметры этих компонентов ответа представлены в таблице.

Временные параметры реакций нейронов соматосенсорной коры на стимуляцию VPM

	Латентный период	Длительность
Первичное возбуждение	n=38 12,94 ± 2,53 12,0 – 12,0 – 12,0	n=38 30,74 ± 19,77 24,0 – 16,0 – 44,0
Первичное торможение	n=29 56,21 ± 43,19 40,0 – 32,0 – 48,0	n=29 249,86 ± 149,38 240,0 – 184,0 – 280,0
Вторичное возбуждение (тоническое)	n=22 281,54 ± 86,19 276,0 – 208,0 – 320,0	n=22 310,07 ± 207,15 224,0 – 160,0 – 416,0
Вторичное возбуждение (фазное)	n=20 256,80 ± 115,53 274,0 – 190,0 – 350,0	n=20 705,31 ± 89,72 688,0 – 640,0 – 768,0
Вторичное торможение	n=19 903,12 ± 271,16 896,0 – 744,0 – 1050,0	n=19 646,44 ± 250,88 632,0 – 497,5 – 752,0

В каждой ячейке в верхней строке представлены число реакций (n), среднее значение ± ошибка среднего, в нижней – медиана, нижний и верхний квартили распределений.

Реакции более 60 % нейронов были представлены четырехкомпонентным ответом (Рис. 3)

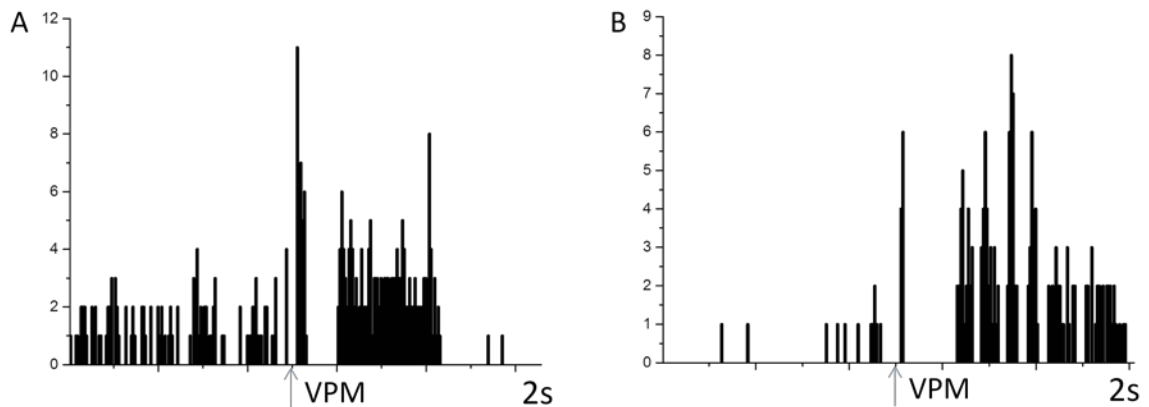


Рис 3. Тоническая (А) и фазная (В) реакции нейронов коры на стимуляцию VPM  
 Суммарные перистимульные гистограммы (10 предъявлений). Эпоха анализа 2 с.1 бин 8 мс.  
 По оси ординат – количество спайков в бине. Стрелка – момент нанесения раздражения

Вторичное возбуждение проявлялось в виде двух типов реакций. В 36% случаев это было тоническое возбуждение (Рис 3А). У 33% зарегистрированных нейронов выявлена фазная реакция, включающая группу от 3 до 6 разрядов, сменяющихся периодами молчания (Рис. 3В). Длительность каждого разряда фазного ответа была  $87,12 \pm 74,77$  мс. Продолжительность периодов между активационными фазами колебалась в пределах от 56 до 240 мс. Период между первой и второй фазами ответа составлял  $130,2 \pm 48,3$  мс. Продолжительность периодов между фазами составлял  $98 \pm 24,2$  мс. Фазный ответ значительно отличался от тонической реакции по трем показателям.

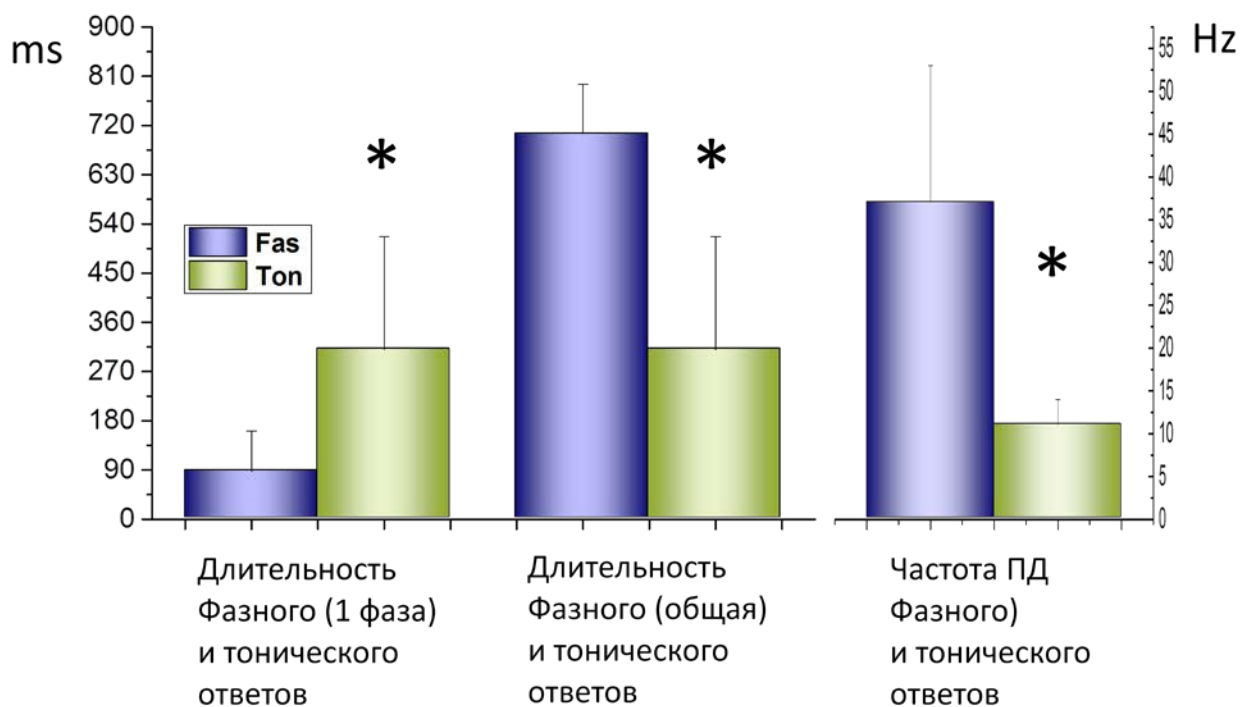


Рис. 4. Отличительные особенности фазного и тонического ответов

Длительность тонического разряда была значимо больше длительности отдельного компонента фазного ответа ( $t(59) = 5,83$ .  $P < 0,001$ ) (рис 4). Общая длительность фазной реакции превышала длительность тонической реакции. ( $t(38) = 6,5$ .  $P < 0,001$ ). Частота потенциалов действия в фазном ответе ( $36,86 \pm 15,68$  Гц) была значимо больше частоты спайков в тонической реакции ( $11,12 \pm 2,7$  Гц) - ( $t(26) = 6,05$ .  $P < 0,001$ ).

Таким образом, у крыс линии WAG/Rij в период, когда пик-волновая активность уже сформирована, фазную реакцию нейронов соматосенсорной коры можно вызвать не только стимуляцией PO (паралемнисковый вход в кору) (Tsvetaeva et. al. 2019), так и стимуляцией VPM (лемнисковый вход).

Следовательно, фазная реакция нейронов коры возникает в ответ на афферентное раздражение независимо от того по какому сенсорному входу возбуждение достигло коры.

Тот факт, что вторичный фазный компонент реакции на стимуляцию VPM по трем показателям отличается от тонического, позволяет полагать, что он представляет самостоятельный ответ и не является результатом структурирования вторичной тонической реакции.

Длительность периодов между фазными разрядами колеблется в пределах от 56 до 240 мс, что соответствует частоте 17 Гц и 4 Гц, и находится в диапазоне частот пик-волновой активности у крыс линии WAG/Rij (Bosnyakova D. et. al. 2007). Это свидетельствует в пользу высказанного нами предположения о том, что выявленная фазная реакция может являться нейронным эквивалентом пик-волновой активности. Продолжительность периода между разрядами ( $98 \pm 24,2$  мс) допускает вероятность того, что фазный разряд отражает реверберацию таламокортикального возбуждения. В этом случае тормозные паузы, структурирующие фазы реакции, вероятнее всего обусловлены возвратным торможением. Однако, полученные нами данные позволяют усомниться в наличии возвратного торможения в коре у наших животных. Как было обнаружено, первичное возбуждение очень быстро прерывается первичным торможением (рис. 2). Если допустить, что основа этого - возвратное торможение, то непонятно, почему вторичная тоническая активация не ограничивается им, о чем свидетельствует значимо большая



длительность тонического компонента по сравнению с длительностью первичной активации ( $t(63) = 8,29$ .  $P < 0,001$ ). Впрочем, нельзя исключить, что активность одних нейронов коры регулируется возвратным торможением, и эти нейроны генерируют фазную реакцию, а активность других нейронов не регулируется возвратным торможением, и у них вторичная активация представлена тоническим ответом.

В связи с этим, остается неясным, обусловлена ли фазная реакция нейронов у крыс линии WAG/Rij в период, когда пик-волновая активность уже сформирована, реверберацией, или она возникает в результате особой (например, пейсмекерной) активности нейронов коры в ответ на афферентную стимуляцию. Выяснению этого вопроса предполагается посвятить дальнейшее исследование.

### **Заключение**

- У крыс линии WAG/Rij в период, когда пик-волновая активность уже сформирована, электрическая стимуляция VPM вызывает фазную реакцию у 33% нейронов соматосенсорной коры.
- По временным показателям фазная реакция нейронов коры соответствует пик-волновой активности, что позволяет считать ее нейронным эквивалентом эпилептической активности.

## Литература

Bosnyakova D., A.V. Gabova, A. Zharikova, V. Gnezditski, G. Kuznetsova, Gilles van Luijtelaar. Some peculiarities of time-frequency dynamics of spike-wave discharges in humans and rats. *Clinical Neurophysiology*. 2007. 118(8):1736-43

Coenen A.M.L., van Luijtelaar E.L.J.M. Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behav. Genet*. 2003. 33: 635-655.

Lüttjohann A, van Luijtelaar G. Dynamics of networks during absence seizure's on- and offset in rodents and man. *Front. Physiol*. 2015;6. ID 16.

Sitnikova E., van Luijtelaar G. Cortical control of generalized absence seizures: effect of lidocaine applied to the somatosensory cortex in WAG/Rij rats. *Brain Res*. 2004;1012(1-2):127-137.

Tsvetaeva D. A., Sitnikova E. Yu., V. V. Raevsky. Cortical somatosensory neurons in WAG/Rij rats transform firing evoked by simulation of posterior thalamic nucleus from tonic to phasic at age of 6 months. *Bull. Experimental Biol. Med*. 2019, 168, (1): 1-4